



(12)

BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: **a 2009 00661**

(22) Data de depozit: **28.08.2009**

(45) Data publicării mențiunii acordării brevetului: **28.02.2012** BOPI nr. **2/2012**

(41) Data publicării cererii:
28.02.2011 BOPI nr. **2/2011**

(73) Titular:
• **INSTITUTUL DE CHIMIE
MACROMOLECULARĂ "PETRU PONI",
ALEEA GRIGORE GHICA VODĂ NR.41/A,
IAȘI, IS, RO**

(72) Inventatori:
• **CHIRIAC P. AURICA,
STR.ALEXANDRU VLAHUȚĂ NR.7B, AP.16,
IAȘI, IS, RO;**
• **NIȚĂ LOREDANA ELENA, BD.COPOU
NR.42, BL.A3, SC.B, PARTER, AP.3, IAȘI,
IS, RO;**

• **NEAMȚU IORDANA,
STR.THEODOR PALLADY NR.8, SC.B,
ET.3, AP.9, IAȘI, IS, RO**

(56) Documente din stadiul tehnicii:
**L.E.NIȚĂ, A.P.CHIRIAC, Ș.A., "MAGNETIC
COMPOSITES BASED ON
BIOCOMPATIBLE POLYMERIC SHELLS
AND IRON OXIDE NANOPARTICLES
CORES", POSTER, ATENA, 13-15 MAI
2009; KR 100635026 B1; KR 100634381 B1**

(54) **PROCEDEU DE SINTEZĂ A UNUI COMPOZIT MAGNETIC**



RO 126041 B1

1 Invenția se referă la un procedeu de obținere a unui compozit magnetic pe bază de
ferită și copolimer polisuccinimidă-poli(etilenglicol) sub formă de microparticule cu caracteristici
3 combinate de hidrofilie și hidrofobie, care poate fi utilizat în detoxifierea sângelui uman sau
ca purtător magnetic de substanțe bioactive pentru transportul la țintă și eliberarea controlată
5 a medicamentelor.

În literatura de specialitate, se prezintă microparticule polimerice cu caracteristici
7 magnetice, cu aplicații atât tehnice (separare, transportul fluidelor, tonere), cât și biomedicale
analitice sau clinice, ca: detoxifierea sângelui uman prin îndepărtarea selectivă și rapidă a
9 contaminanților biologici sau chimici, purificarea acizilor nucleici și a proteinelor, separarea
celulară, extracția ADN-ului, imobilizarea enzimatică, transportul la o țintă specifică al
11 medicamentelor sau ca sondă magnetică care induce creșterea semnalului sau a
contrastului în imagistica de rezonanță magnetică.

13 Astfel de particule pot fi funcționalizate în scopul de a interacționa cu entitatea
biologică de interes. Datorită caracteristicilor magnetice, pot fi manipulate de către un câmp
15 magnetic exterior, așa cum se practică în hipotermie, separarea magnetică celulară, trans-
portul țintit al principiilor bioactive (medicamente). Aplicațiile biomedicale necesită biocom-
17 patibilitate, biodegradabilitate, absența reacțiilor imunitare și a toxicității. De asemenea, sunt
necesare hidrofilia suprafeței și dimensiuni relativ reduse, în așa fel încât să poată evada din
19 țesutul reticuloendotelial.

S-au dezvoltat metode de preparare multifazice a particulelor polimerice cu caracte-
21 ristici magnetice prin tehnica de depunere strat cu strat sau prin procese de polimerizare
în fază eterogenă (emulsie, suspensie, dispersie, micro- și miniemulsie). Materialul compozit
23 rezultat prezintă una dintre structuri: (1) material magnetic ca miez încapsulat în coaja
polimerică, (2) material magnetic dispersat în matricea polimerică după polimerizare și (3)
25 material magnetic coajă adsorbit în porii polimerului preformat ca miez.

Acizii poli(aminici) de tipul poli(acidului aspartic) și copolimerii lor au fost intensiv
27 studiați ca purtători polimerici pentru substanțele bioactive în cadrul sistemelor de eliberare
controlată a medicamentelor. Polimerii pe bază de acizi aminici ca poli(acidul aspartic) aduc
29 avantajul unei polipeptide ce conferă legare specifică cu țesuturile și prezența a două grupe
funcționale (amino- și hidroxil-) pentru funcționalizarea cu receptori specifici cum ar fi
31 chelatorii radionucleari sau anticorpii mononucleari.

În particular, poli(succinimida) ca produs intermediar în sinteza poli(acidului aspartic)
33 din acid D,L-aspartic, datorită biocompatibilității, biodegradabilității și lipsei de toxicitate, este
unul dintre cei mai promițători purtători macromoleculari de medicamente, deoarece ea
35 posedă caracteristici structurale și fizico-chimice corespunzătoare scopului menționat.
Combinarea în aceeași macromoleculă a caracteristicilor de hidrofilie ale poli(etilenglicolului)
37 și hidrofobie datorată poli(succinimidei) este importantă datorită potențialelor aplicații
biologice și farmaceutice care necesită solubilizare în mediu apos și capacitatea de a crea
39 situs-uri pentru funcționalizare de-a lungul macromoleculei. Prezența componentei
magnetice oferă sensibilitatea în prezența unui câmp magnetic exterior.

41 Brevetul **US 4582622** (1986) prezintă prepararea de particule magnetice din gelatină,
polizaharidă solubilă în apă, fosfat de sodiu și substanțe magnetice. Brevetele **US 4628037**
43 (1986) și **4554088** (1985) descriu microparticule cu miez de oxid metalic magnetic încapsulat
în coajă de polimer siloxanic. În brevetul **US 4452773** (1984), particulele de dimensiuni
45 coloidale cu miez feromagnetic sunt acoperite cu o polizaharidă solubilă în apă sau cu un
derivat al acesteia cu grupe funcționale. Brevetul **US 4695392** (1987) descrie particule
47 responsive magnetic cu miez de ferită înconjurat de o coajă siloxanică, la care pot fi cuplate
o mare varietate de molecule organice și/sau biologice.

RO 126041 B1

În brevetele **US 4554088** (1985) și **4628037** (1986), un miez de oxid metalic superparamagnetic este înconjurat de un polimer siloxanic; microparticulele magnetice sintetizate au suprafață superficială mare și sunt aplicate în teste de imunitate și purificări. Datorită dimensiunilor reduse, se îndepărtează dificil din suspensia de celule și deseori este excesivă legarea nespecifică la celulele normale.

Folosirea microparticulelor polimerice magnetice ca fază solidă în diverse tipuri de teste a fost prezentată în brevetele: **US 4152210** (1979) și **4343901** (1982) pentru imobilizare de enzime; **US 3970518** (1976), **4230685** (1980) și **4672040** (1987) pentru separări de celule și **US 4554088** (1985), **4628037** (1986), **3933997** (1976) pentru teste de imunitate.

Se mai descrie, în brevetul **US 4339337** (1982), prepararea de microparticule polimerice magnetice prin dispersarea particulelor magnetice în soluția unui polimer dizolvat într-un compus aromatic vinilic polimerizabil și polimerizarea ulterioară a amestecului. În brevetul **US 4358388** (1982), nanoparticulele magnetice sunt dispersate într-o fază organică ce conține dizolvat inițiatorul și un monomer aromatic vinilic. Faza organică este ulterior emulsionată și polimerizată pentru a rezulta un latex.

Microsfere magnetice pe bază de glutaraldehidă se sintetizează prin polimerizarea acesteia în prezență de nanoparticule magnetice (**US 4267234** - 1981 și **4267235** - 1981) și pe bază de poli(acroleină) prin polimerizarea in-situ a acroleinei (**US 4438239** - 1984). Sinteza de particule compozite de oxid metalic încapsulat în polimer vinilic este prezentată în brevetul **US 5834121**, 1998. În brevetul **US 6204033** din 2001, se prezintă sinteza de particule magnetice încapsulate în poli(vinil alcool), cu capacitatea de funcționalizare la grupele hidroxilice pentru a se cupla cu biomolecule.

În brevetul **US 7547473** din 2005, se prepară microparticule cu caracter magnetic prin depunerea unei polizaharide carboxilate cu funcționalități diferite ca agenți chelatori sau schimbători de ioni, pe suprafața nanoparticulelor magnetice. Microparticulele pot fi aplicate pentru adsorbția de cationi metalici, diferite specii anionice, molecule de medicament sau biomolecule, acționând ca adsorberi pentru apele uzate sau separarea biochimică, purtător cu funcție de țintire a medicamentelor sau genelor, agent de contrast pentru imagistica de rezonanță magnetică.

Particulele magnetice sunt folosite ca reactivi pentru purificarea și extracția acizilor nucleici. Brevetele **US 5750338** din 1998 și **5898071** din 1999 utilizează particule magnetice încapsulate în polimer siloxanic în prezență de poli(etilenglicol) pentru captarea, extracția și eliberarea țintită a unui acid nucleic în detecția secvențelor specifice din ADN. De asemenea, brevetul **US 6027945** din 2000 descrie aplicarea de particule polimerice siloxanice cu caracter magnetic și diametru de 4 - 7 μ pentru extracția și purificarea acizilor nucleici. Procesele și produsele descrise în brevetele menționate au un lucru în comun, și anume particulele magnetice sunt preparate prin precipitarea unei soluții de săruri cu un anumit raport molar al Fe(II) și Fe(III), în prezența agenților de complexare sau în timpul sintezei acoperirilor polimerice. Acest proces determină un dezavantaj comun: microparticulele rezultate din polimeri cu nanoparticule magnetice încapsulate au o distribuție largă de dimensiuni în domeniul 100 Å - 100 μ și o structură geometrică de tip amorf, ovoidală, nu sferică. Dimensiunile mici favorizează legarea nespecifică la celulele normale sau la pereții containerului de stocare. De asemenea, conținutul de oxid magnetic variază.

Se cunoaște din L. Niță, A. Chiriac, ș.a. "Magnetic composites based on biocompatible polymeric shells and iron oxide nanoparticles cores", poster prezentat la Atena 13-15 mai 2009, un compozit magnetic încapsulat într-un copolimer biocompatibil și biodegradabil obținut prin copolimerizarea polisuccinimidei cu polietilenglicol în prezența nanoparticulelor de oxid de fier în prezența catalizatorului acetat de mangan (II). De asemenea, brevetul **KR 100635026** descrie un agent utilizat în diagnosticare prin MRI pe

RO 126041 B1

1 bază de copolimer polisuccinimidă, care poate fi substituit cu o grupare polietilenoxid și o
grupare de chelatizare, care poate fi oxid de fier. Compusul rezultat este biodegradabil,
3 uniform dimensional și prezintă un efect de contrast foarte bun. Brevetul **KR 100634381**
descrie un agent utilizat în diagnosticare prin MRI pe bază de copolimer polisuccinimidă cu
5 o greutate moleculară de 1000-100.000, care poate fi substituit cu o grupare polietilenoxid
și o grupare de chelatizare, care poate fi oxid de fier.

7 Problema tehnică pe care o rezolvă invenția, așa cum rezultă din descriere, constă
în obținerea unor microparticule magnetice cu caracteristici de hidrofilie și hidrofobie
9 îmbunătățite, simultan cu realizarea unui bun control al dimensiunii microparticulelor.

11 Procedeu de obținere a unui compozit magnetic pe bază de ferită și copolimer
polisuccinimidă-polietilenglicol, conform invenției, înlătură dezavantajele menționate, prin
aceea că policondensarea polisuccinimidei și a polietilenglicolului cu greutate moleculară de
13 4000, 10000 sau 20000, în raport gravimetric de 2:1, are loc în prezență de 3,37% ferită sub
formă de ferofluid stabilizat de concentrație 3,205%, 6,5% solvent dimetilformamidă și 1,5%
15 catalizator $Mn(CH_3COO)_2 \cdot 4H_2O$ în soluție apoasă, raportat la cantitatea totală de copolimer
adăugat în picături timp de 60 min, sub agitare continuă și barbotare de azot, reacția
17 continuând timp de 6 h la 140°C, cu eliminarea apei.

Procedeu conform invenției prezintă următoarele avantaje:

19 - este un procedeu ecologic, fără emanații toxice, simplu de aplicat și sigur în
exploatare, cu un număr redus de faze tehnologice;

21 - copolimerul dibloc sintetizat prezintă grupe funcționale care conferă compozitului
magnetic solubilitate în apă, precum și funcționalizarea cu o mare varietate de grupări
23 funcționale, în scopul cuplării covalente sau a conjugării cu substanțe bioactive;

25 - se realizează un control bun al dimensiunii microparticulelor și un domeniu de
distribuție îngust al acestora;

- conținutul de oxid metalic poate fi variat conform aplicației;

27 - stabilitate de stocare, cât și operațională, în circuitul sanguin.

Se dă, în continuare, un exemplu de realizare a invenției.

29 **Exemplu.** Într-o instalație de laborator în sine cunoscută, compusă dintr-un vas de
reacție de 50 ml, cu fund rotund și patru găuri, echipat cu agitator, trapă Dean-Stark cu conden-
31 sator de reflux, termometru, racord la azot și baie de ulei pentru încălzire, se alimentează sub
agitare puternică 4 g polisuccinimida (PSI) (corespunzător 0,040 moli unități succinimidă),
33 2 g polietilenglicolul (PEG) (corespunzător 0,032 moli unități etilenglicol) cu greutatea moleculară
de 4000, 10.000 sau 20.000, solvite în 30 ml dimetilformamidă (0,39 moli, corespu-
35 6,5 moli % față de polimer) și 6 g ferită sub formă de ferofluid stabilizat cu concentrația de
3,205% (corespunzător 3,73 % față de polimer). Se încălzește sistemul la 140°C, menținând
37 sub agitare și barbotând un curent de azot. Când temperatura de reacție atinge valoarea de
140°C, se adaugă, prin picurare timp de 60 min, cantitatea de 0,09 g $Mn(CH_3COO)_2 \cdot 4H_2O$
39 (0,367 mmoli, 1,5% față de polimer) catalizator dizolvat în 5 ml apă.

Se continuă reacția pentru încă 6 h. În acest timp, se aplică un vid slab, pentru a
41 elimina aproximativ 10 ml apă. Se răcește mediul de reacție, menținând agitarea. Dispersia
rezultată de copolimer dibloc cu ferită încapsulată prin sinteză se filtrează și se spală de
43 câteva ori cu metanol în exces, pentru a îndepărta reactanții nereacționați. Se usucă la 45°C,
sub presiune redusă. Spectroscopic, nu se detectează polisuccinimidă reziduală.

45 Deoarece copolimerul dibloc cu ferită încapsulată sintetizat este hidrofil, impuritățile
cu moleculă mică (catalizator, solvent) pot fi îndepărtate prin dializa amestecului de reacție
47 pentru 2 săptămâni, conducând la o puritate finală de peste 98%. Apa se îndepărtează prin
uscarea la vid, spălare cu metanol și uscare.

RO 126041 B1

Copolimerul dibloc polisuccinimidă-b-polietilenglicol cu ferită încapsulată sintetizat, ca instrument terapeutic în detoxifierea sângelui uman sau ca purtător magnetic de substanțe bioactive pentru transportul la țintă și eliberarea controlată a medicamentelor, a fost caracterizat din punct de vedere al compoziției chimice, dimensiunii particulelor, stabilității termice și magnetizării. În tabelul 1 sunt prezentate datele rezultate prin spectroscopia în infraroșu apropiat cu analiză chimică NIR-CI și distribuția dimensiunilor prin difuzia luminii laser, iar în tabelul 2 sunt înregistrate temperaturile caracteristice procesului de descompunere termică, pierderile în greutate corespunzătoare temperaturii maxime de descompunere și susceptibilitatea magnetică determinată pentru o anumită intensitate a câmpului magnetic.

Tabelul 1

Analiza NIR-CI și distribuția dimensiunii microparticulelor de co(PSI-b-PEG) cu ferită încapsulată

Proba	Predicția de compoziție prin analiza spectroscopică NIR-CI Copolimer/ferită	Distribuția dimensiunii particulelor Diametru microparticule, μ		
		Dv10 ¹⁾	Dv50 ²⁾	Dv90 ³⁾
4000	0,33/0,67	1,269	5,883	17,154
10000	0,50/0,50	1,717	11,311	20,503
20000	0,59/0,41	1,929	7,418	18,851

¹⁾ Dv10 - valoarea diametrului pentru care 10% din volumul probei are particule cu diametrul mai mic decât această valoare.

²⁾ Dv50 - valoarea diametrului pentru care 50% din volumul probei are particule cu diametrul mai mare decât această valoare și 50% din volumul probei are particule cu diametrul mai mic decât această valoare.

³⁾ Dv90 - valoarea diametrului pentru care 10% din volumul probei are particule cu diametrul mai mic decât această valoare.

Tabelul 2

Analiza termogravimetrică și magnetizarea microparticulelor de co(PSI-b-PEG) cu ferită încapsulată

Proba	Analiza termogravimetrică x)				Magnetizarea	
	T _i , °C	T _{max} , °C	T _f , °C	AW, %	Susceptibilitate magnetică, uem/g	Intensitatea câmpului magnetic, Oe
4000	75	1e+05	600	1020	20,3	19048
10000	75	1e+05	600	1018	88	19042
20000	90	1e+05	600	2230	4,6	19032

T_i (°C) - temperatura de început a descompunerii.

T_{max} (°C) - temperatura descompunerii maxime.

T_f (°C) - temperatura finală a descompunerii.

AW - pierderea în greutate pe intervalul T_i (°C) - T_{max} (°C).

x) - copolimerul dibloc cu ferita încapsulată prezintă două peak-uri de descompunere, reprezentate de cele două valori pentru T_{max} și AW.

Rezultatele indică faptul că microparticulele au o distribuție îngustă de dimensiuni cuprinsă în domeniul 1 - 20 μ . Măsurătorile magnetice relevă o scădere a magnetizării la saturare de la 20,3 la 4,6 uem/g cu creșterea greutatei moleculare a poli(etilenglicolului) de la 4.000 la 20.000.

RO 126041 B1

1

Revendicare

3

Procedeu de obținere a unui compozit magnetic pe bază de ferită și copolimer polisuccinimidă-polietilenglicol, **caracterizat prin aceea că** policondensarea polisuccinimidei și a polietilenglicolului cu greutate moleculară de 4000, 10000 sau 20000, în raport gravimetric de 2:1, are loc în prezență de 3,37% ferită sub formă de ferrofluid stabilizat de concentrație 3,205%, 6,5% solvent dimetilformamidă și 1,5% catalizator $\text{Mn}(\text{CH}_3 \text{COO})_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$ în soluție apoasă, raportat la cantitatea totală de copolimer adăugat în picături timp de 60 min, sub agitare continuă și barbotare de azot, reacția continuând timp de 6 h la 140°C, cu eliminarea apei.

5

7

9



Editare și tehnoredactare computerizată - OSIM
Tipărit la: Oficiul de Stat pentru Invenții și Mărci
sub comanda nr. 99/2012